

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03489

研究課題名（和文）交感神経とリンパ濾胞から成る機能ユニットの動作原理と免疫学的意義

研究課題名（英文）Role of adrenergic neurons in the control of immune responses

研究代表者

鈴木 一博（Suzuki, Kazuhiro）

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・教授

研究者番号：60611035

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,300,000円

研究成果の概要（和文）：リンパ器官における交感神経の分布様式と、リンパ濾胞の構成細胞におけるノルアドレナリン受容体の発現から、交感神経とリンパ濾胞は機能的なユニットを形成していると考えられる。本研究では、交感神経がリンパ濾胞の構成細胞に及ぼす影響に注目して、交感神経の免疫応答における役割を明らかにすることを目的とした。本研究の結果、交感神経が免疫応答の成立に重要な役割を果たすことが明らかになるとともに、交感神経がリンパ濾胞ストローマ細胞の形態と機能を制御していることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は、交感神経がリンパ濾胞ストローマ細胞の形態と機能に多大な影響を及ぼすことを明らかにし、リンパ濾胞ストローマ細胞が交感神経による免疫制御において重要な役割を果たすことを示した点において学術的に有意義である。また、本研究は、交感神経活動を操作することにより免疫応答の強度を制御し得ることを示唆しており、神経系による免疫制御という新しいコンセプトに基づいた免疫賦活法の開発につながる点において社会的にも有意義である。

研究成果の概要（英文）：Emerging evidence indicates that various aspects of the immune system are controlled by the nervous system. However, the role of adrenergic neurons in the control of immune responses has been incompletely understood. In this study, we show that adrenergic signals had substantial impacts on the morphology and function of a subset of lymphoid stromal cells. Chemogenetic activation of adrenergic neurons induced a morphological change of the stromal cells, which was recapitulated by the treatment with an adrenergic receptor agonist. Using an experimental system mimicking a secondary immune response, we demonstrated that adrenergic inputs enhance the immunogenic capacity of the stromal cells. These findings suggest that the stromal cells play an important role in adrenergic neuron-mediated control of immune responses.

研究分野：免疫学

キーワード：交感神経 免疫応答

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

生体は神経系、循環器系、呼吸器系、消化器系、内分泌系、免疫系など特定の生理機能を担う複数のシステムから構成されており、これらのシステムが協調することによって恒常性が保たれている。したがって、個体レベルでの生命現象を理解するためには、これらの生体システム間の相互作用を理解することが重要である。なかでも神経系と免疫系は、内的・外的環境の変化を感知し、それに適応するための生体応答を惹起する2大生体システムである。「病は気から」ということわざにも示されるように、神経系が何らかの形で免疫系に影響を及ぼしていることが古くから指摘されてきたが、そのメカニズムは今なお十分に解明されていない。

### 2. 研究の目的

リンパ節や脾臓といったリンパ器官のリンパ濾胞には、リンパ球の一種であるB細胞と、リンパ濾胞の構造を保持するためのストローマ細胞が存在する。我々の予備的な検討から、リンパ濾胞の周辺部に交感神経が投射することが明らかになった。また、リンパ濾胞の主な構成細胞であるB細胞とストローマ細胞には、交感神経から放出される神経伝達物質ノルアドレナリンの受容体として、 $\alpha_2$ アドレナリン受容体が強く発現していることが知られている。これらのことから、交感神経とリンパ濾胞は一種の機能的なユニットを形成していると考えられる。本研究では、交感神経がリンパ濾胞の構成細胞に及ぼす影響に注目して、交感神経とリンパ濾胞から成る機能ユニットの免疫応答における役割を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

#### (1) リンパ節における交感神経の可視化

交感神経に蛍光タンパク GFP を発現するマウスのリンパ節を採取し、透明化試薬を用いて透明化した。透明化したリンパ節の全体をライトシート顕微鏡を用いて撮影し、取得した画像を元にリンパ節を3次元的に再構築することで、リンパ節における交感神経の分布を可視化した。

#### (2) 免疫応答の誘導

マウスの側腹部および鼠径部の皮下に、抗原としてニトロフェニル基を結合させたニワトリのガンマグロブリンをアジュバントと混合して注射した。免疫後、1週間毎にマウスの血液を採取し、血清中に含まれるニトロフェニル基に特異的な抗体の濃度を測定した。

#### (3) $\alpha_2$ アドレナリン受容体アゴニストの投与

$\alpha_2$ アドレナリン受容体の選択的刺激薬(アゴニスト)であるクレンブテロール(clenbuterol)を充填した浸透圧ポンプをマウスの背部の皮下に留置した。

#### (4) 交感神経の除去および交感神経活動の化学遺伝学的な操作

交感神経を除去するに当たっては、マウスの腹腔内に6-水酸化ドーパミン(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)を隔日で3回投与した。交感神経の活動を化学遺伝学的に操作するに当たっては、生体内に存在せず、かつ生理作用のない化合物であるデシクロクロザピン(deschloroclozapine, DCZ)に対して選択的に反応するようにデザインされた受容体(designer receptors exclusively activated by designer drugs, DREADD)を交感神経に特異的に発現するマウスを作製した。このマウスにDCZを投与することにより、交感神経活動を上昇させた。

#### (5) リンパ節切片の蛍光免疫染色

マウスのリンパ節を採取し、凍結の上、切片を作製した。B細胞およびリンパ濾胞ストローマ細胞を可視化するための蛍光標識抗体を用いてリンパ節切片を染色し、共焦点レーザー蛍光顕微鏡で観察・撮影した。

#### (6) リンパ濾胞ストローマ細胞の抗原提示能の解析

マウスの静脈内に蛍光色素フィコエリスリン(phycoerythrin, PE)に対する抗体を投与した上で、PEと鶏卵リゾチーム(hen egg lysozyme, HEL)の結合物(HEL-PE)を側腹部と鼠径部の

皮下に注射し、鼠径リンパ節のリンパ濾胞ストローマ細胞に沈着させた。このマウスに HEL に特異的な B 細胞受容体を発現する B 細胞を養子移入し、その 12 時間後に鼠径リンパ節に含まれる HEL 特異的 B 細胞をフローサイトメーターで解析した。

#### (7) 単一細胞 RNA シークエンス

マウスのリンパ節をコラーゲン分解酵素を用いて消化した後、リンパ濾胞ストローマ細胞をセルソーティングにより単離し、単一細胞 RNA シークエンスに供した。単一細胞 RNA シークエンスのデータはソフトウェア Seurat を用いて解析した。

### 4. 研究成果

#### (1) リンパ節における交感神経の分布

交感神経はリンパ器官にも分布することが知られていたが、その分布様式の全容は不明であった。そこで我々は、リンパ節に分布する交感神経を網羅的に可視化するため、交感神経に GFP を発現するマウスのリンパ節を透明化し、その全体を 2 光子励起蛍光顕微鏡で可視化した上で 3 次元的に再構築することを試みた。その結果、リンパ節の交感神経はリンパ濾胞の周辺部に分布するという特徴的な分布様式を示すことがわかった。

#### (2) 免疫応答における交感神経の役割

免疫応答における交感神経の役割を明らかにするため、6-OHDA を用いて交感神経を除去したマウスを免疫し、血清中の抗体価を指標として免疫応答の強度を評価した。その結果、初めて免疫した後の免疫応答は正常であったが、再び同じ抗原で免疫した後の免疫応答が不全であった。このことから、交感神経が免疫応答の成立に寄与することがわかった。

#### (3) 交感神経によるリンパ濾胞ストローマ細胞の形態制御

上記の結果に基づいて、交感神経が免疫応答の成立に寄与するメカニズムについて研究を進めた。その過程で、 $\beta_2$  アドレナリン受容体アゴニストを投与したマウスのリンパ節切片を蛍光免疫染色により解析したところ、リンパ濾胞ストローマ細胞の形態が大きく変化することが確認された。交感神経の関与をより明確に示すために、交感神経に DREADD を発現するマウスに DCZ を投与することにより、化学遺伝学的に交感神経活動を上昇させたところ、リンパ濾胞ストローマ細胞の形態に  $\beta_2$  アドレナリン受容体アゴニストを投与した場合と同様の変化が認められた。これらの結果から、交感神経がリンパ濾胞ストローマ細胞の形態を制御することが明らかになった。その分子機構を解明するため、 $\beta_2$  アドレナリン受容体アゴニストを投与したマウスのリンパ節からリンパ濾胞ストローマ細胞を単離し、遺伝子発現を単一細胞 RNA シークエンスにより網羅的に解析した。その結果、 $\beta_2$  アドレナリン受容体の活性化に伴って細胞骨格の制御に関与する遺伝子の発現に変動が認められ、これらの遺伝子が交感神経によるリンパ濾胞ストローマ細胞の形態変化に関与することが示唆された。

#### (4) 交感神経によるリンパ濾胞ストローマ細胞の機能制御

次に我々は、交感神経がリンパ濾胞ストローマ細胞の機能に及ぼす影響について検討した。リンパ濾胞ストローマ細胞は B 細胞に抗原を提示し、B 細胞を活性化する役割を果たしていることから、交感神経がリンパ濾胞ストローマ細胞の抗原提示能に及ぼす影響を解析した。予めリンパ節のリンパ濾胞ストローマ細胞に抗原を沈着させたマウスに、その抗原を特異的に認識する B 細胞を養子移入し、これらの B 細胞の抗原の獲得と活性化を測定する実験系において、化学遺伝学的に交感神経活動を上昇させたところ、B 細胞の抗原の獲得と活性化が亢進することがわかった。この結果は、交感神経がリンパ濾胞ストローマ細胞の抗原提示能を制御することを示している。

#### (5) 研究成果の学術的意義と社会的意義

これまでリンパ濾胞ストローマの形態と機能を変化させるような仕組みは見つかっていなかった。この意味において、交感神経がリンパ濾胞ストローマ細胞の形態と機能を制御するというのは驚きの発見である。本研究は、リンパ濾胞ストローマ細胞が交感神経による免疫制御において重要な役割を果たすことを示した点において学術的に有意義である。

また、本研究から、交感神経活動を操作することによって、免疫応答の強度を制御し得ること

が示された。この成果は、交感神経活動を人為的に操作することにより感染症ワクチンの効果を高めるなど、神経系による免疫制御という新しいコンセプトに基づいた免疫賦活化法の開発につながる点において社会的にも有意義である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Leach Sarah, Suzuki Kazuhiro	4. 巻 11
2. 論文標題 Adrenergic Signaling in Circadian Control of Immunity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.01235	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakai Akiko, Leach Sarah, Suzuki Kazuhiro	4. 巻 -
2. 論文標題 Control of immune cell trafficking through inter-organ communication	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab009	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Nakai Akiko, Fujimoto Jun, Miyata Haruhiko, Stumm Ralf, Narazaki Masashi, Schulz Stefan, Baba Yoshihiro, Kumanogoh Atsushi, Suzuki Kazuhiro	4. 巻 216
2. 論文標題 The COMMD3/8 complex determines GRK6 specificity for chemoattractant receptors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Experimental Medicine	6. 最初と最後の頁 1630 ~ 1647
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1084/jem.20181494	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Nakai Akiko, Suzuki Kazuhiro	4. 巻 130
2. 論文標題 Adrenergic control of lymphocyte trafficking and adaptive immune responses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Neurochemistry International	6. 最初と最後の頁 104320 ~ 104320
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.neuint.2018.10.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計23件（うち招待講演 23件 / うち国際学会 11件）

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経と免疫細胞のクロストーク
3. 学会等名 第119回日本皮膚科学会総会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 アドレナリン作動性神経による免疫応答の制御
3. 学会等名 第63回日本神経化学会大会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 COMMD3/8複合体によるGPCRシグナルの制御
3. 学会等名 第93回日本生化学会大会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経による免疫調節 - その生理的意義と病理的意義
3. 学会等名 第15回湯島皮膚アレルギー研究会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 Overview talk: immuno-neural connections
3. 学会等名 第48回日本免疫学会総会・学術集会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経による免疫調節
3. 学会等名 第49回日本皮膚免疫アレルギー学会総会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経による免疫応答の制御
3. 学会等名 第72回日本自律神経学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経による免疫制御 - 研究の新展開 -
3. 学会等名 Dermatology学術講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経によるB細胞免疫応答の制御
3. 学会等名 第47回日本臨床免疫学会総会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経による免疫・炎症の制御 - リンパ球動態の観点から -
3. 学会等名 第34回日本乾癬学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 神経がつくる免疫の昼と夜
3. 学会等名 免疫ふしぎ未来2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 Control of lymphocyte behaviors by adrenergic nerves
3. 学会等名 NEUR02019（第42回日本神経科学大会、第62回日本神経化学学会大会）（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2019年



1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 GPCR-mediated control of humoral immune responses
3. 学会等名 The 1st UCL-OU Joint Symposium on Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 Anatomical and functional connections of adrenergic nerves with lymphoid microarchitectures
3. 学会等名 RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経による炎症・免疫の制御
3. 学会等名 第1回生体防御医学セミナー (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経による免疫・炎症の制御
3. 学会等名 第47回日本集中治療医学会 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 神経系と免疫系のクロストーク - 過去・現在・未来
3. 学会等名 未病社会の診断技術研究会 第39回講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 Adrenergic nerve-mediated control of lymphocyte trafficking and immune responses
3. 学会等名 The 44th Annual Meeting of the Japan Neuroscience Society（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経 - 免疫連関：その生理的意義と病理的意義
3. 学会等名 第74回日本自律神経学会総会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 概日リズムと免疫 - 免疫の日内変動のメカニズムと意義
3. 学会等名 第17回日本食品免疫学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 交感神経 - 免疫連関の生理と病態
3. 学会等名 第40回日本認知症学会学術集会（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 リンパ球の動態から考える「免疫力」
3. 学会等名 第2回大阪大学健康・医療クロスイノベーション免疫セミナー（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鈴木 一博
2. 発表標題 リンパ球動態の新たな制御機構に基づく免疫制御法の可能性
3. 学会等名 第10回ケラチノサイト・免疫と皮膚を勉強する会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 宮坂 昌之	4. 発行年 2021年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 434
3. 書名 標準免疫学 第4版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪大学免疫学フロンティア研究センター・免疫応答動態学研究室ホームページ  
<http://ird.ifrec.osaka-u.ac.jp/>  
免疫細胞の移動を制御する分子COMMD3/8複合体の発見  
<http://www.ifrec.osaka-u.ac.jp/jpn/research/20190515-0830.htm>  
免疫細胞の移動に関する新たな免疫制御因子COMMD3/8複合体を発見  
[http://www.biken.osaka-u.ac.jp/news\\_topics/detail/955](http://www.biken.osaka-u.ac.jp/news_topics/detail/955)  
免疫細胞の移動に関する新たな免疫制御因子COMMD3/8複合体の発見  
[https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2019/20190514\\_1](https://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2019/20190514_1)

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関			
米国	Thomas Jefferson University	University of California, San Francisco	The Rockefeller University	他1機関
ドイツ	Friedrich Schiller University Jena	Max Planck Institute	TU Dresden	